

VU Research Portal

Oncogenic properties and targeting of chemokine receptors CXCR4, CXCR7 and US28

Delic, A.

2015

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Delic, A. (2015). *Oncogenic properties and targeting of chemokine receptors CXCR4, CXCR7 and US28*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Nederlandse Samenvatting

Oncogene eigenschappen en gerichte therapie tegen chemokine receptoren CXCR4, CXCR7 en US28

Dit proefschrift beschrijft het onderzoek dat ik heb uitgevoerd om het functioneren van chemokine receptoren CXCR4, CXCR7 en US28 in kanker cellen te bestuderen. Chemokine receptoren behoren tot de superfamilie van G eiwit –gekoppelde receptoren. Over het algemeen zijn receptoren eiwitten die zich bevinden op de celmembraan van verschillende cellen en die tot taak hebben om signalen van buitenaf te ontvangen en om te zetten naar signalen binnenin de cel. Het kan dan gaan om verschillende signalen van buitenaf zoals licht, geur of smaak, maar ook bepaalde stoffen die door het lichaam worden afgescheiden als je bijvoorbeeld gelukkig voelt of als je een wondje hebt. Het gevolg binnenin de cel kan dan zijn dat je licht waarneemt, bepaalde lekkere of vieze geur ervaart of dat je wond gaat helen. Met andere woorden, receptoren zijn belangrijke punten van communicatie die aan cellen doorgeven welke taken ze dienen uit te voeren. In sommige gevallen kan de communicatie ontregeld worden doordat een bepaalde signaalstof de cel niet kan bereiken of doordat de receptor niet meer in staat is de signalen op de juiste manier door te geven binnenin de cel. Als dit gebeurt kan er een ziekte ontstaan dat varieert van een onschuldige spierkramp tot ongecontroleerde groei van cellen dat leidt tot kanker.

Meer specifiek, chemokine receptoren binden signaalstoffen genaamd chemokines. Chemokines worden afgescheiden door imuuncellen in geval van een ontsteking of beschadigd weefsel. Zodra chemokines in hoge concentratie worden afgescheiden en een gradiënt vormen, wordt dit “aangevoeld” door cellen die chemokine receptoren tot expressie brengen op hun membraan en worden deze cellen (vaak witte bloedcellen) geleid in de richting van de chemokines. Als er binding plaatsvindt van de chemokine met de chemokine receptor worden er signalen in de cellen doorgegeven om het herstel van beschadigd weefsel te starten of om de ontsteking te remmen. In sommige gevallen treedt er een verstoring van het systeem op waardoor teveel of juist te weinig chemokines afgescheiden worden en hierdoor ook de aantrekking van cellen naar de behorende plekken anders verloopt. Dit kan leiden tot het ontstaan ofwel het verergeren van bepaalde ziektes. Één van deze ziektes is kanker en daar is in dit proefschrift onderzoek naar gedaan.

Er zijn in totaal 22 chemokine receptoren met 50 chemokines momenteel bekend. Sommige receptoren kunnen meerdere chemokines binden, maar bepaalde chemokines

kunnen ook op verschillende receptoren binden. In dit proefschrift ligt de focus op twee humane chemokine receptoren CXCR4 en CXCR7 en een virale chemokine receptor US28. CXCR4 kan alleen 1 bepaalde chemokine binden, namelijk CXCL12, terwijl CXCR7 twee chemokines (CXCL11 en CXCL12) bindt. US28 bindt een scala aan chemokines, maar het bijzondere aan dit receptor is dat hij “constitutief actief” is. Dit houdt in dat alleen al de aanwezigheid van de receptor op de celmembraan leidt tot activatie van allerlei signalen binnenin de cel. Er hoeft dus geen chemokine te binden om de receptor te activeren.

In de afgelopen jaren is er veel onderzoek gedaan naar de betrokkenheid van CXCR4 in kanker. De interesse naar deze receptor is ontstaan toen uit een onderzoek bleek dat het ontstaan van uitzaaiingen op specifieke organen wordt veroorzaakt door de verhoogde concentratie CXCL12 die bij die specifieke organen aanwezig is. Verder onderzoek heeft aangetoond dat hoge expressie van CXCR4 op de primaire tumorcellen leidt tot de verplaatsing (migratie) van deze cellen richting de CXCL12 gradiënt. Tot op een aantal jaar terug is CXCR4 de enige receptor geweest die CXCL12 kon binden. De ontdekking van het bestaan van CXCR7, die ook onder andere CXCL12 kon binden heeft geleid tot nieuwe vragen. Is de werking toegekend aan CXCR4 wel daadwerkelijk afkomstig van CXCR4 of is CXCR7 verantwoordelijk voor bepaalde observaties? Deze vraag en andere hebben geleid tot meer onderzoek naar CXCR4 en CXCR7, waaruit is gebleken dat CXCR4, CXCR7 en CXCL12 een gecompliceerde signaal transductie cascade in werking zetten die heel erg afhankelijk is van de celtype.

Naast CXCR4 en CXCR7 heb ik onderzoek gedaan naar de virale chemokine receptor US28. Deze receptor wordt tot expressie gebracht door humaan cytomegalovirus (HCMV). In meerdere onderzoeken is aangetoond dat dit virus mogelijk betrokken is bij, onder andere, kanker. HCMV brengt een viertal virale chemokine receptoren tot expressie, waarvan US28 tot nu toe het meest onderzocht is. In ons laboratorium hebben mijn voorgangers aangetoond dat US28 constitutief actief is, en dat de receptor oncogene processen in een cel kan aanzetten en bespoedigen. US28 voert dit uit door middel van activatie van meerdere signalerings cascades die een bijdrage leveren aan verhoogde groei van cellen.

In **hoofdstuk 1** van mijn proefschrift is een algemene introductie te vinden over chemokine receptoren en hun betrokkenheid bij verschillende ziektes. In **hoofdstuk 2** is de focus op gerichte therapie tegen GPCRs met antilichamen. In dit hoofdstuk wordt uitgebreid beschreven wat de zogenaamde nanobodies zijn en hoe ze gebruikt kunnen worden als remmer van chemokine receptor signalering. Vervolgens hebben we nanobodies gemaakt en gekarakteriseerd die specifiek binden aan CXCR7 en de signalering van deze receptor remmen. Hoe deze nanobodies ingezet kunnen worden in het remmen van hoofd- en nekkanker celgroei is beschreven in **hoofdstuk 3**. In **hoofdstuk 4** bestuderen we een borstkanker cellijn die zowel CXCR4 als CXCR7 tot expressie brengt. In deze cellijn kijken we hoe deze twee receptoren de interactie aangaan met een andere klasse receptoren, de zogenaamde receptor tyrosine kinases en meer specifiek de epidermal growth factor receptors (EGFR familie). We tonen aan dat zowel CXCR4 als CXCR7 de activatie van deze receptoren kan bewerkstelligen door middel van CXCL12 binding met de receptor. Daarbij kan CXCR7 ook zonder binding van een chemokine de receptor HER2 activeren. Combinatie van remming van CXCR7 en HER2 leidt tot een verdere remming van celgroei in vergelijking met het remmen van HER2 alleen. Het effect van CXCL12 stimulatie van deze borstkanker cellijn is verder

onderzocht in **hoofdstuk 5**. Om dit te onderzoeken is gebruik gemaakt van de Reverse Phase Protein Array (RPPA), wat inhoudt dat tegelijk is gekeken naar de activatie van verschillende eiwitten in de cel. Dit heeft geleid tot het vinden van eiwitten die specifiek door CXCR4 of door CXCR7 geactiveerd worden, maar ook eiwitten die door beide receptoren worden geactiveerd. Uiteindelijk zijn er een aantal signalering netwerken gevonden die beïnvloedt worden door CXCR4 en/of CXCR7 activatie.

Als laatste hebben we in **hoofdstuk 6** de focus gelegd op US28 en een nieuwe route van signalering van deze receptor ontdekt. We tonen aan dat US28 hypoxia induced factor 1 (HIF-1) kan activeren en dat dit leidt tot verhoogde expressies van meerdere genen, onder andere van vascular endothelial growth factor (VEGF). VEGF op zijn beurt leidt tot bloedvaten aanmaak in tumor cellen, een proces genaamd angiogenese. We tonen ook aan dat cellen geïnfecteerd met het HCMV virus HIF-1 kunnen activeren en dat US28 daarbij betrokken is.

In **hoofdstuk 7** worden de bevindingen van het gehele onderzoek bediscussieerd en in verband gelegd met behandeling van kanker. Ook worden er hypothesen gegeven en voorstellen gedaan voor vervolg onderzoek.

Samenvattend wordt in dit proefschrift de signalering van CXCR4, CXCR7 en US28 onder de loep genomen en worden er nieuwe signalerings cascades beschreven. Daarbij zijn er CXCR7-specifieke nanobodies gemaakt en is er een startpunt gemaakt met het onderzoeken van de voordelen die hoofd- en nekkanker patiënten kunnen hebben van CXCR7-gerichte therapie.